

Efeito da suplementação com mananoligossacarídeo sobre parâmetros clínicos e ganho de peso vivo de bezerras

Effect of supplementation with mannanoligosaccharide on clinical parameters and body weight gain of calves

Viviane Rohrig Rabassa^{1*}; Talita Bandeira Roos²; Elizabeth Schwegler³; Eduardo Schmitt⁴; Marcelo Moreira Antunes⁵; Mateus Silveira Lopes⁶; Paula Montagner⁷; Francisco Augusto Burkert Del Pino⁸; Carmen Lúcia Garcez Ribeiro⁹; Marcio Nunes Corrêa¹⁰

Resumo

Mundialmente há uma tendência de restrição aos antibióticos na produção animal, e cada vez mais as pesquisas se concentram na busca por alternativas, como é o caso do uso de probióticos e prebióticos na alimentação animal. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do prebiótico mananoligossacarídeo (MOS) sobre o perfil metabólico, resposta imune, incidência de diarreia e ganho de peso de bezerras da raça Holandesa. Foram utilizadas 32 bezerras, divididas em dois grupos: Grupo mananoligossacarídeo (GMOS, n=16) e Grupo Controle (GC, n=16). O MOS foi administrado no leite em quantidade de 5g/animal, uma vez ao dia, de 15 ± 7 até 43 ± 7 dias de idade, totalizando 28 dias de suplementação. Coletas de sangue para determinação do perfil metabólico, hemograma e níveis de anticorpos contra *Salmonella typhimurium*, pesagens corporais e avaliação da ocorrência de diarreia foram realizadas a cada 7 dias. Não houve efeito da suplementação com MOS sobre as variáveis analisadas. A partir destes resultados, concluímos que a suplementação com MOS não influenciou parâmetros clínicos e zootécnicos de bezerras da raça Holandesa.

Palavras-chave: Bezerro, mananoligossacarídeo, diarreia, cálcio

Abstract

Worldwide there is a trend toward limiting the use of antibiotic in animal production, and more researches are focused on the search for alternatives, such as the use of probiotics and prebiotics in feed. The aim of this study was to evaluate the effect of mannanoligosaccharide (MOS) on the metabolic profile, immune activity, incidence of diarrhea and weight gain in Holstein-Friesian calves. Thirty two females calves were divided into two groups; mannanoligosaccharide Group (MOSG, n=16) and Control Group (Control G, n=16). MOS was administered into the milk (5g/animal), once a day, from 15 ± 7 to 43 ±

¹ Prof^a Assistente, Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Pelotas, RS. E-mail: vivianerabassa@gmail.com

² Prof^a Adjunta, Universidade Federal do Pará, UFPA. E-mail: talitaroos@gmail.com

³ Doutoranda em Veterinária da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: bethveterinaria@gmail.com

⁴ Pós-doutorando em Veterinária da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: schmitt.edu@gmail.com

⁵ Graduando em Veterinária da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: marcelo85mma@gmail.com

⁶ Médico Veterinário. E-mail: mateus.s.lopes@gmail.com

⁷ Mestranda em Biotecnologia da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: paulamontagner@gmail.com

⁸ Prof. Associado da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: fabdelpino@gmail.com

⁹ Prof^a Associada da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: caluribeiro@yahoo.com.br

¹⁰ Prof. Associado da UFPel, Pelotas, RS. E-mail: marcio.nunescorrea@gmail.com

* Autor para correspondência

7 days of age, totaling 28 days of supplementation. Blood were collected to determine the metabolic profile, hemogram and concentration of antibodies against *Salmonella typhimurium*. Body weight and occurrence of diarrhea was evaluated every 7 days. No effects of MOS were detected on the evaluated variables. In conclusion, the results showed that the mannanoligosaccharide did not alter the clinical and zotechnical parameters in Holstein-Friesian calves.

Key words: Calf, mannanoligosaccharide, diarrhea, calcium

Introdução

Antimicrobianos em doses sub-terapêuticas são utilizados na ração animal, tanto como promotores de crescimento quanto para controlar doenças (BUTAYE; DEVRIESE; HAESEBROUCK, 2003). Apesar dos efeitos benéficos do uso de antibióticos na produção animal, estes podem deixar resíduos nos produtos de origem animal. Por esse motivo alguns países têm restringido a entrada de produtos obtidos de animais que foram alimentados com antibióticos. Além disso, existe uma tendência mundial pela escolha de alimentos com menores riscos à saúde, já que o uso prolongado de antibióticos pode induzir ao aumento de populações bacterianas resistentes, causando riscos significativos à saúde animal e humana (RUSSEL; HOULIHAN, 2003). Neste âmbito, o uso de alternativas aos antibióticos na alimentação animal, como os probióticos e prebióticos se torna cada vez mais interessante.

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou um número limitado de espécies bacterianas no cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995; SILVA; NÖRNBERG, 2003). Este efeito pode ser benéfico na prevenção de casos de diarréia, visto que estudos sugerem um importante papel da microflora intestinal na resistência às doenças entéricas, seja por infecção viral ou por colonização de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal (SHERWOOD; GORBACH, 2000; ASAHARA et al., 2004). Além disso, alguns prebióticos modulam a resposta imune, aumentando os níveis séricos (WHITE et al.,

2002) e intestinais (HOSONO et al., 2003) de imunoglobulinas em resposta a patógenos, podendo auxiliar na prevenção de quadros de diarréia.

A diarréia resulta em má absorção intestinal de nutrientes, levando à queda na taxa de crescimento. Em quadros graves, a má absorção intestinal pode se manter por longos períodos, podendo ocasionar lesões irreversíveis, reduzindo a conversão alimentar e ocasionando baixo desempenho durante toda a sua vida produtiva (BOUDA; MEDINA; QUIROZ-ROCHA, 2000). Na tentativa de reduzir estes efeitos deletérios da diarréia sobre o desempenho, o uso de prebióticos como o mananoligossacarídeo (MOS) vem sendo bastante estudado, principalmente na espécie suína (MIGUEL; RODRIGUEZ-ZAS; PETTIGREW, 2004), apresentando efeitos benéficos sobre a incidência de diarréia e o desempenho zootécnico. Entre seus mecanismos de ação conhecidos estão a adsorção de bactérias patogênicas, diminuindo a aderência bacteriana à mucosa intestinal (FINUCANE; SPRING; NEWMAN, 1999), bem como a sua ligação a sítios receptores em macrófagos, através do reconhecimento de determinados açúcares, desencadeando uma reação em cascata que resultaria em ativação de macrófagos e liberação de citocinas, além de induzir o aumento da síntese de imunoglobulinas (MACFARLANE; CUMMINGS, 1999). Ainda são poucos os estudos realizados em bezerros.

Pode-se supor que a suplementação com MOS auxilie no equilíbrio da microflora intestinal de bezerros, bem como no estabelecimento de uma resposta imune efetiva contra patógenos

entéricos, prevenindo quadros de diarreia e suas conseqüências metabólicas. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do prebiótico MOS sobre o perfil metabólico, a resposta imune, a incidência de diarreia e o ganho de peso de bezerras da raça Holandesa.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira, na cidade de Rio Grande/RS. Foram utilizadas 32 bezerras da raça Holandesa, com peso médio de 53,75 kg, e idade média de 15 ± 7 dias.

Animais e grupos experimentais

Os animais permaneceram em piquete de campo nativo, manejados individualmente através do sistema de estacas, recebendo entorno de 20 litros de água, 4 litros de leite/dia e até 1 kg de concentrado/dia (19% de proteína bruta, 13% de umidade, 2,5% de extrato etéreo, 12% de fibra bruta, 1,5% de cálcio e 0,4% de fósforo) (NRC, 2001).

Os animais foram divididos uniformemente, por idade e peso corporal, em dois grupos: Grupo MOS (GMOS) e Grupo Controle (GC), cada um contendo 16 animais. O MOS (Bio-Mos® - Alltech Inc., Estados Unidos) foi administrado no leite das bezerras do GMOS, em quantidade de 5g/animal, uma vez ao dia, por um período de 28 dias (de 15 ± 7 a 43 ± 7 dias de idade).

Coleta de dados de desempenho e avaliações clínicas

Os animais foram avaliados a cada 7 dias quanto ao ganho de peso, com o uso de fitas para tórax (BRUSTOLIN et al., 2005), perfazendo um total de 6 avaliações, ou seja, a última pesagem foi realizada 7 dias após o término da suplementação com MOS.

A condição clínica das bezerras foi avaliada a cada 7 dias durante o período de suplementação, através de exame clínico geral. A presença de alterações nas características das fezes e atitude dos animais foi avaliada diariamente, sendo registradas eventuais alterações.

Coletas de sangue e análises bioquímicas

Foram realizadas coletas de sangue por punção da veia jugular, a cada 7 dias, num total de 5 coletas, para obtenção de amostras de soro, plasma (EDTA 10%) e plasma com antiglicolítico (EDTA 10% e Fluoreto de Potássio 12%), para realização das análises metabólicas. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500g durante 10 minutos, para obtenção de soro ou plasma, e congeladas a -18°C . Ainda, foram feitas três coletas de sangue, utilizando como anticoagulante EDTA 10%, para avaliação do perfil leucocitário, nos dias zero, 14 e 28 do experimento.

Para determinação do perfil metabólico foram analisados os níveis de glicose, colesterol, ureia, albumina, cálcio e fósforo, utilizando fotolorimetria, com espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 435®, Brasil). Para avaliação dos níveis de glicose foi utilizado plasma resfriado com antiglicolítico utilizando o método da glicose oxidase (Glicose PAP Liquiform – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Para análise da ureia foi utilizado o método da urease (Uréia CE – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). O nível sérico de albumina foi determinado através do método do verde de bromocresol (Albumina – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), nas amostras de soro resfriado. O colesterol foi avaliado em amostras de soro conservado por congelação, utilizando o método de colesterol esterase oxidase (Colesterol Liquiform – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Os níveis de cálcio (Cálcio Liquiform – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil) e de fósforo (Fósforo – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil) foram determinados em amostras de soro conservado

por congelação.

Imunização e análises imunológicas

Todos os animais foram imunizados por via intramuscular, com 3 mL de uma vacina (Paraven® - Vencofarma, Brasil) composta pelos microrganismos *Salmonella typhimurium*, *Salmonella Dublin*, *Pasteurella multocida* A e D inativados, *Escherichia coli* antígenos K88, K99, 987P, F41 e toxóide de *Clostridium perfringens* tipo B, nos dias 7 e 21 do experimento. Os anticorpos contra *Salmonella typhimurium* foram detectados pela técnica de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), seguindo os protocolos padrões para a realização do teste, conforme Crowther, 2001. Para sensibilização da placa utilizou-se 50 µL de suspensão contendo *Salmonella typhimurium* diluída em tampão carbonato-bicarbonato (pH 9,6), permanecendo por 18 horas a 4°C. Após as placas foram lavadas três vezes com tampão fosfato (pH 7,6), contendo Tween 20 a 0,5% (PBS-T, pH 7,6). Os soros foram diluídos (1/100) em PBS-T, adicionado 50 µL de cada diluição por cavidade (em duplicata) e incubadas por 90 minutos a 37°C. Em seguida, as placas foram novamente lavadas três vezes com PBS-T e após o adicionado 50 µL do conjugado (diluído 1/4000 em PBS-T de imunoglobulina de coelho anti-bovina conjugada a peroxidase) e incubadas por 90 minutos a 37°C. Após, as placas foram lavadas cinco vezes com PBS-T e, logo depois, foi adicionado 50 µL de substrato/cromógeno Ortho-Phenylenediamine (OPD, Sigma, Brasil), deixando reagir por 15 minutos no escuro, em temperatura ambiente. As absorbâncias foram medidas em um leitor de microplacas (MR 700 Microplate Reader, Dynatech Laboratories, Estados Unidos) a 450 nm. As absorbâncias de cada amostra foram divididas pela absorbância do soro da coleta 1 (dia zero) do mesmo animal, e os resultados

expressos como soroconversão.

Coletas e análises coprológicas

Foram realizadas 4 coletas de fezes no decorrer do experimento para avaliação bacteriológica. Após a coleta as amostras foram refrigeradas e posteriormente processadas. Foi realizada a titulação de microrganismos, através de contagem em meio sólido (Ágar MacConkey, Acumedia, Neogen do Brasil, Brasil), por semeadura em superfície, tendo como unidade de medida o número de unidades formadoras de colônia por grama de fezes (UFC)/g.

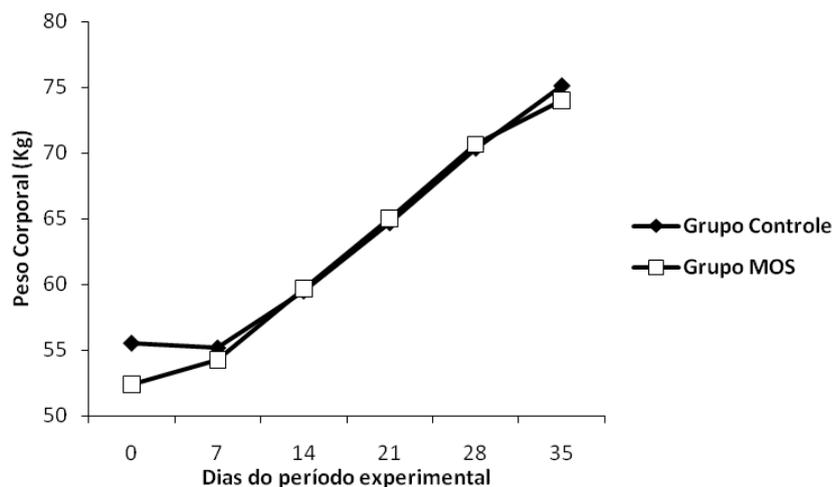
Análise estatística

Os resultados obtidos neste estudo foram analisados através do programa SAS® (1986), utilizando a análise de variância para medidas repetidas, com comparação entre médias de acordo com o Teste de Tukey HSD ($P < 0,05$), para os parâmetros zootécnicos (ganho de peso), clínicos (perfil leucocitário, níveis de anticorpos e análises coprológicas) e metabólicos (níveis séricos de glicose, colesterol, uréia, albumina, cálcio e fósforo). A variável categórica presença ou ausência de diarreia, bem como o efeito dos grupos, das coletas e suas interações, foi analisada por regressão logística. Ainda, foram comparados os níveis de marcadores metabólicos em bezerras com ou sem diarreia, através de Fatorial ANOVA.

Resultados

Os animais do GMOS apresentaram ganho de peso médio diário (GMD) de 695g/dia e os do GC de 574g/dia ($P > 0,05$), durante um período de 35 dias, sendo o ganho de peso no decorrer do experimento apresentado na Figura 1.

Figura 1. Peso corporal médio de bezerras suplementadas ou não com mananoligossacarídeo (MOS).



Não houve efeito da suplementação com MOS sobre a incidência de diarreia ($P=0,29$; Figura 2), bem como sobre os parâmetros metabólicos analisados (Tabela 1). Porém, quando comparados animais sadios e animais com diarreia, dentro de um mesmo grupo, foi

observado níveis séricos significativamente inferiores ($P=0,002$) de cálcio nos animais com diarreia (Figura 3). Os demais metabólitos não foram influenciados pela diarreia ou pela suplementação com MOS ($P>0,05$).

Figura 2. Incidência de diarreia (n) em bezerras submetidas ou não à suplementação com mananoligossacarídeo (MOS).

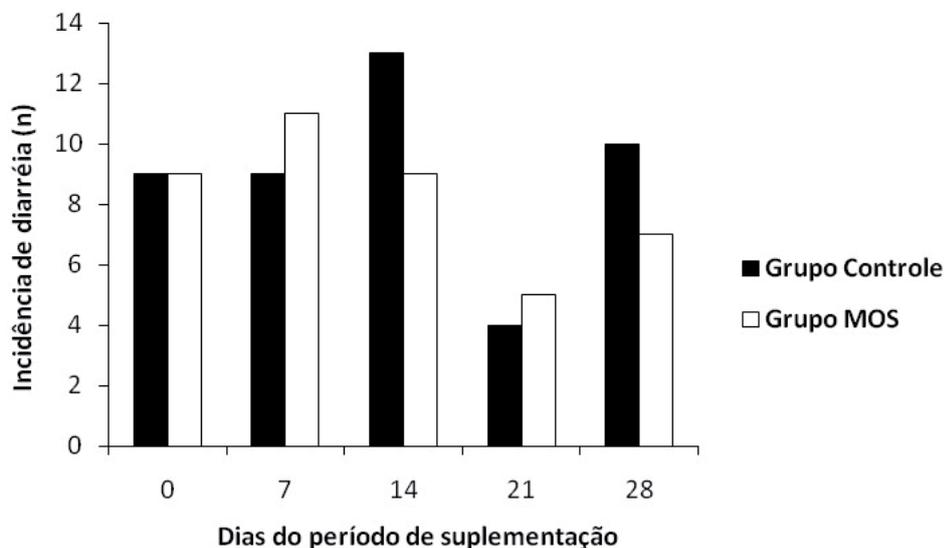
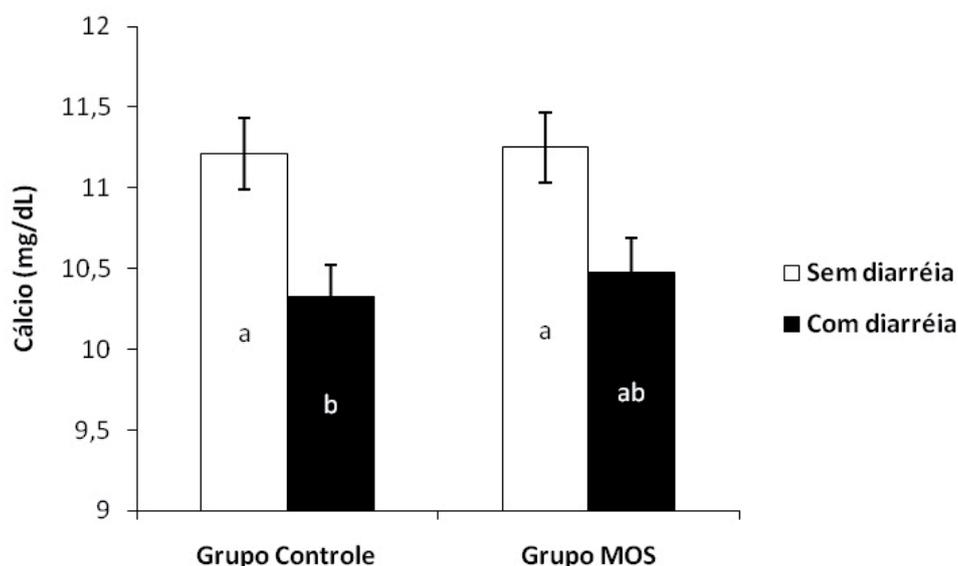


Tabela 1. Níveis séricos de marcadores metabólicos (média \pm erro padrão da média) de bezerras suplementadas ou não com mananoligossacarídeo (MOS).

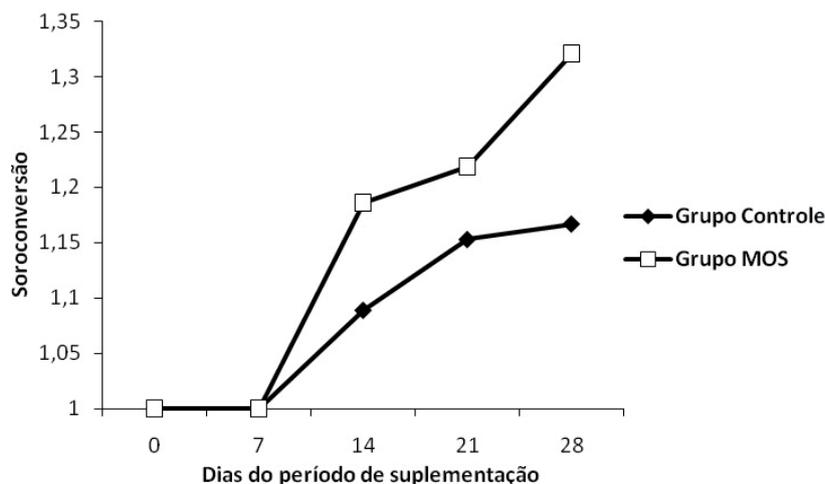
Parâmetros	MOS (\pm EPM)	Controle (\pm EPM)	Valor de P		
			Grupo	Coleta	Grupo*Coleta
Glicose (mg/dL)	77,09 (2,84)	75,50 (2,75)	0,94	0,006	0,70
Colesterol (mg/dL)	85,99 (2,92)	85,59 (2,83)	0,92	<0,001	0,64
Albumina (g/dL)	3,01 (0,04)	3,00 (0,04)	0,88	<0,001	0,89
Uréia (mg/dL)	49,79 (0,92)	47,47 (0,89)	0,07	<0,001	0,44
Cálcio (mg/dL)	10,85 (0,11)	10,72 (0,11)	0,39	<0,001	0,93
Fósforo (mg/dL)	7,43 (0,16)	7,83 (0,15)	0,08	<0,001	0,62
Magnésio (mg/dL)	2,13 (0,05)	2,05 (0,04)	0,20	<0,001	0,98

Figura 3. Níveis séricos de cálcio (\pm erro padrão da média) em bezerras suplementadas ou não com mananoligossacarídeo (MOS), acometidas ou não de diarreia.

A suplementação com MOS não alterou os níveis de anticorpos contra *Salmonella typhimurium* ($P>0,05$; Figura 4). Da mesma forma, o MOS não influenciou o perfil leucocitário (Tabela 2) durante o período de

suplementação.

Na avaliação bacteriológica das fezes não houve diferença entre grupos ($p>0,05$), quanto ao número de UFC/g (Figura 5).

Figura 4. Níveis séricos de anticorpos contra *Salmonella typhimurium* em bezerras submetidas ou não à suplementação com mananoligossacarídeo (MOS).**Tabela 2.** Perfil leucocitário (\pm erro padrão da média) de bezerras suplementadas ou não com mananoligossacarídeo (MOS).

Parâmetros	MOS (\pm EPM)	Controle (\pm EPM)	Valor de P		
			Grupo	Coleta	Grupo*Coleta
Neutrófilos ($/\mu\text{L}$)	3022,2 (205,8)	2922,0 (221,1)	0,74	0,39	0,07
Linfócitos ($/\mu\text{L}$)	4634,2 (260,8)	4468,8 (280,1)	0,67	0,001	0,47
Leucócitos totais ($/\mu\text{L}$)	8223,1 (347,4)	7980,6 (373,2)	0,64	<0,001	0,58

Discussão

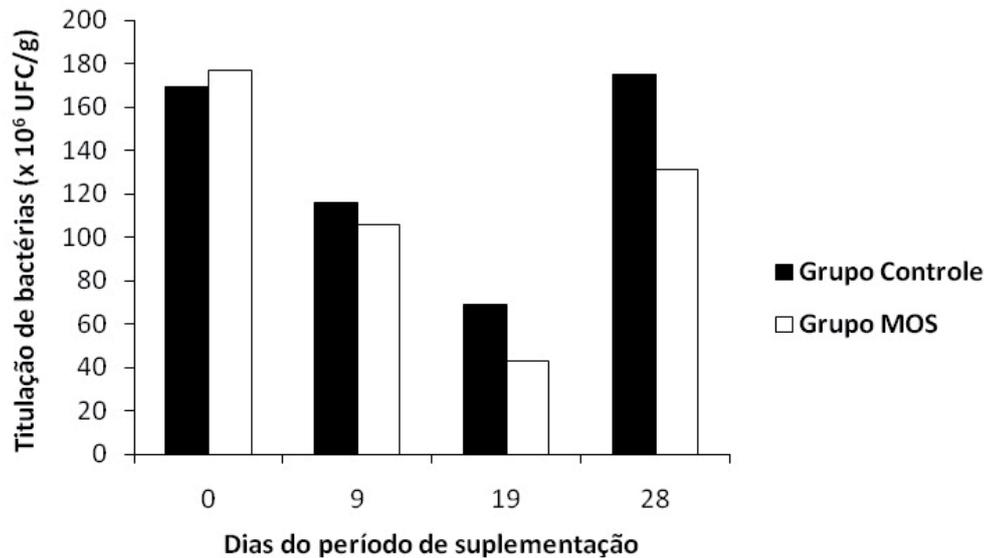
Quanto ao GMD não houve diferença entre grupos, porém animais suplementados com MOS tiveram um incremento de 17,4% no ganho de peso durante o período avaliado, sendo superior ao resultado obtido por Sandi e Muhlbach (2001), os quais obtiveram um aumento de 13,9% no GMD em bezerros machos da raça Holandesa, suplementados com MOS do nascimento aos 56 dias de idade.

Os resultados obtidos relacionados ao perfil metabólico demonstram que o metabolismo energético e protéico destes animais não foi

influenciado pela suplementação com MOS. Porém, quando categorizadas as bezerras com ou sem diarreia, foi observada variação no metabolismo mineral, determinada pelos níveis de cálcio.

A diminuição nos níveis séricos de cálcio provavelmente reflete um comprometimento na absorção intestinal deste mineral, causada pelo quadro de diarreia, concordando com os resultados obtidos por Santos et al. (2002), os quais observaram redução nos níveis de cálcio após infecção experimental de bezerros com *Salmonella* sp.

Figura 5. Titulação de bactérias, através de contagem em meio sólido, de bezerras submetidas ou não à suplementação com mananoligossacarídeo (MOS).



A incidência de diarreia variou de 14,0 a 34,3% no período avaliado, sendo superior ao observado por Bartels et al. (2010), o qual encontrou uma variação entre 15,5 e 23,2% em 108 rebanhos leiteiros avaliados. Um dos fatores que podem ter influenciado para a alta incidência de diarreia pode ter sido a elevada precipitação pluviométrica ocorrida no período experimental (precipitação total de 180 mL, com média histórica de 146 mL, segundo o Centro de Pesquisas e Previsões Meteorológicas da UFPEL), o que, aliado ao inverno rigoroso desta região, e o fato das bezerras serem criadas em sistema de estacas, provavelmente levou ao aumento dos casos de diarreia.

Não houve efeito do MOS sobre os níveis de anticorpos específicos contra *Salmonella typhimurium*, a partir do estímulo vacinal, provavelmente devido ao curto período experimental para obtenção de um efeito mais significativo do MOS sobre a resposta imune.

Ainda, os prebióticos atuam sobre a microbiota intestinal, competindo com bactérias patogênicas e promovendo o crescimento das populações de

bactérias benéficas como as *Bifidobacterium* e os *Lactobacillus* (SILVA; NÖRNBERG, 2003), as quais são conhecidas pela capacidade de produzirem os ácidos láctico e acético. A maior produção destes ácidos promove a diminuição do pH no sistema digestivo, o que provoca inibição no desenvolvimento das populações de bactérias nocivas, como *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella* sp., as quais apresentam alta sensibilidade a ambientes ácidos (MATHEW et al., 1996). Porém, como neste estudo foi avaliada somente a contagem bacteriana total nas fezes, não foi possível determinar o efeito do MOS sobre a população de bactérias patogênicas, sendo que sobre a contagem bacteriana total não houve efeito do MOS.

Conclusão

Concluimos que a suplementação de bezerras com MOS não apresentou efeito sobre o ganho de peso, incidência de diarreia, perfil metabólico ou resposta imune de bezerras da raça Holandesa.

Referências

- ASAHARA, T.; SHIMIZU, K.; NOMOTO, K.; HAMABATA, T.; OZAWA, A.; TAKEDA, Y. Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Infection and Immunity*, Washington, v. 72, n. 4, p. 2240-2247, 2004.
- BARTELS, C. J.; HOLZHAUER, M.; JORRITSMA, R.; SWART, W. A.; LAM, T. J. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, Fort Collins, v. 93, n. 2/3, p. 162-169, 2010.
- BOUDA, J.; MEDINA, M.; QUIROZ-ROCHA, G. Diarréia no terneiro: etiopatogenia, tratamento e prevenção. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. (Ed.). *Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p. 57-60.
- BRUSTOLIN, K. D.; QUADROS, F. L. F.; VIÉGAS, J.; GABBI, A. M.; CARLOTTO, S. B.; CARDOSO, A. R.; FONTOURA, P. G.; PIUCO, M. A. Recria de bezerras em pastagem de aveia e azevem utilizando suplementação energética com níveis de promotor de crescimento. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 428-434, 2005.
- BUTAYE, P.; DEVRIESE, L. A.; HAESBROUCK, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 16, n. 2, p. 175-188, 2003.
- CROWTHER, J. R. *Methods in molecular biology: the ELISA guidebook*. Totowa, NJ: Humana Press Inc. v. 149, 2001, 421 p.
- FINUCANE, M.; SPRING, P.; NEWMAN, K. Incidence of mannose-sensitive adhesions in enteric bacteria. *Poultry Science*, Honduras, v. 78, p. 139, 1999. Suplemento 1.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 125, p. 1401-1412, 1995.
- HOSONO, A.; OZAWA, A.; KATO, R.; OHNISHI, Y.; NAKANISHI, Y.; KIMURA, T.; NAKAMURA, R. Dietary fructooligosaccharides induce immunoregulation of intestinal IgA secretion by murine Peyer's patch cells. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, Tokyo, v. 64, n. 4, p. 758-764, 2003.
- MACFARLANE, G. T.; CUMMINGS, J. H. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *BMJ*, London, v. 318, n. 7189, p. 999-1003, 1999.
- MATHEW, A. G.; FRANKLIN, M. A.; UPCHURCH, W. G.; CHATTIN, S. E. Influence of weaning age on ileal microflora and fermentation acids in young pigs. *Nutritional Research*, Storrs, v. 6, n.5, p. 817-827, 1996.
- MIGUEL, J. C.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; PETTIGREW, J. E. Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance. *Journal of Swine Health and Production*, v. 12, n. 6, p. 296-307, 2004.
- RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; PETTIGREW, J. E. Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance. *Journal of Swine Health and Production*, Ontario, v. 12, n. 6, p. 296-307, 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of dairy cattle*. Washington, D. C.: National Academy of Science, 2001. 381 p.
- RUSSEL, J. B.; HOULIHAN, A. J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews*, Lausanne, v. 27, n. 1, p. 65-74, 2003.
- SANDI, D.; MUHLBACH, P. R. F. Desempenho de bezerras da raça holandesa com desaleitamento aos 28 ou 56 dias de idade, com ou sem aditivo à base de oligossacarídeo de manana. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 487-490, 2001.
- SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002.
- SHERWOOD, L.; GORBACH, M. D. Probiotics and gastro-intestinal health. *American Journal of Gastroenterology*, New York, v. 95, n. 1, p. 1-4, 2000.
- SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 55-65, 2003.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. *Principles and procedure of statistic*. 2. ed. Carry, NC.: Mc Graw-Hill Inc., 1986.
- WHITE, L. A.; NEWMAN, M. C.; CROMWELL, G. L.; LINDEMANN, M. D. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2619-2628, 2002.

